

Otrzymanie chlorofilu w stanie czystym, widmo chlorofilu i barwika zielonego, towarzyszącego mu w liściach.

Przez

L. Marchlewskiego i C. A. Schuncka.

Wniesiono na posiedzeniu Wydz. mat.-przyr. d. 2. kwietnia 1900.

I.

Pomimo licznych badań sprawa widma chlorofilu w opinii niektórych autorów nie może być uważana za załatwioną. Zagadnienie to jest bez kwestyi jednym z najtrudniejszych, z jakimi badacz ma do czynienia, a sprzeczność poglądów tłumaczy się głównie różnicą metod stosowanych do jego rozwiązania.

Chlorofil jest ciałem nader wrażliwym na wszelkie odczynniki, zwykle stosowane do wyosobniania produktów roślinnych i nieuwzględnianiu tej prawdy przypisać należy okoliczność, że nazywano „chlorofilem“ ciała, które na nazwę tę żadną miarą nie zasługują.

W celu rozstrzygnięcia pytania czy produkt, wyosobniony za pomocą mniej lub więcej skomplikowanych procesów, jest w istocie chlorofilem niezmienionym, należy go poddać studjom porównawczym zarówno chemicznym jak i fizycznym, czego dotychczas nie uwzględniono w należytych stopniu.

Metoda fizyczna jest to od dawna praktykowana widmowa. Własności widmowe ciała badanego należy porównać z własnościami roztworów, co do których niema wątpliwości, że zawierają chlorofil niezmieniony.

Trzeba jednak przyznać, że nawet co do własności takich niezmienionych roztworów chlorofilu badacze nie są zupełnie jednomyślni.

Jedni przyjmują za normę widmo chlorofilowe od dawien dawna w podręcznikach opisywane, inni zaś, a pomiędzy nimi na szczególną uwagę zasługują Hansen i Hartley, opisom tym odmawiają wszelkiego znaczenia, a normalne widmo chlorofilu odtwarzają na zasadzie danych, otrzymanych podczas badania produktów, wyosobnionych w mniej lub więcej skomplikowany sposób i uważanych przez nich za chlorofil czysty. Rezultat badań Hansena oświectliły dostatecznie prace Tschircha i E. Schuncka i Marchlewskiego, badacz ten nie miał do czynienia z chlorofilem lecz z jego pochodną. To samo można powiedzieć o produkcie opisanym przez Hartleya, o czym mamy nadzieję przekonać interesowanych w rozprawce niniejszej.

Jak wiadomo surowe wyciągi liści zielonych wywołują w widmie ciąglem cztery smugi w obszarze pomiędzy liniami słonecznymi B i F. Stopień ciemności trzech pierwszych smug jest mniej więcej ten sam we wszystkich świeżo przygotowanych wyciągach, lecz intensywność czwartej smugi w pobliżu linii E waha się znacznie; niekiedy jest ona ciemniejsza niż trzecia, niekiedy zaledwie widzialna, fakt nasuwający przypuszczenie (E. Schunck), że czwarta owa smuga nie jest swoista chlorofilowi niezmiennemu, a natomiast powodowana przez jakąś pochodną chlorofilu. Zachodzi teraz pytanie, czy owe cztery smugi, a przynajmniej trzy pierwsze¹⁾, które wywoływane też są, według kilku badaczy, przez liście żyjące, charakteryzują ciało jednolite, chlorofil, czy też wywołane są przez dwa lub więcej ciał odmiennych. Co do nas, to przyłączamy się do większości i twierdzimy, że trzy pierwsze smugi wywołane przez surowe wyciągi roślinne są w istocie powodowane wyłącznie przez chlorofil i że ciało to powoduje też trzy smugi, zauważone w widmie surowych wyciągów liści poza linią F. Twierdzenie to opieramy na tem, że udało nam się wynaleźć metodę umożliwiającą wyosobnienie chlorofilu w czystym stanie, którego rozwiązania zachowują się optycznie tak, jak surowe wyciągi liści zielonych. Wobec tego uważamy, że ciało wyosobnione zapomocą jakiegokolwiek metody z wyciągów surowych nie może rościć sobie pretensyi do nazwy „chlorofil“, jeżeli własności jego optyczne nie zgadzają się pod tym względem z widmem absorbeyjnym, wyżej omówionem. Opis naszej metody wyosobniania chlorofilu w stanie czystym odkładamy ze względów praktycznych na koniec niniejszej rozprawy, a przede-wszystkiem omówimy rezultaty otrzymane stosując metodę Hartleya²⁾ do wyosobniania ciała, zwanego przez tego autora chlorofilem błęki-

¹⁾ Porównaj L. M. Journal für praktische Chemie, tom 60. str. 23.

²⁾ Journal of the Chemical Society London 1891.

nym, mającego posiadać widmo abcobeyjne identyczne z widmem surowych wyciągów zielonych. Opis ostatniego przez Hartleya różni się bardzo znacznie od zwykle spotykanych. Według niego niezmienny chlorofil nie powoduje smugi w pomarańczowej części widma, a natomiast dwie smugi w miejscu odpowiadającym pierwszej smudze chlorofilu, zwykle uważanej za charakterystyczną i jedną smugę w części zielonej ¹⁾).

Metoda Hartleya wyosobniana „błękitnego chlorofilu“ polega na działaniu wodanu barowego na wyskokowy wyciąg zielonych liści w temperaturze zwykłej. Osad zielony zbiera się na filtrze przemywa wodą, alkoholem i chloroformem, w celu wydzielenia ciała, zwanego przez niego „chlorofilem żółtym,“ następnie rozciera się go w moździerzu z kwasem bornym, gliceryną i wyskokiem. Kwas borny rozkłada związek barowy, a wyskok rozpuszcza w sobie wolny barwnik zielony. Część tego roztworu zadaliśmy wodą i barwik wyciągnęli eterem. Otrzymany roztwór eterowy porównano spektroskopowo z eterowym roztworem chlorofilu otrzymanym w ten sam sposób z surowego wyciągu liści. Zauważyliśmy przy tem znaczne różnice. Stwierdziliśmy przedewszystkiem, że barwik Hartleya, badany w roztworze stężonym powoduje cztery smugi, z pomiędzy których położona w czerwonej części widma jest najintensywniejsza i szeroka i odpowiada mniej więcej pierwszej smudze chlorofilu; położenie zaś pozostałych trzech jest zupełnie inne, niż w przypadku chlorofilu, a w części pomarańczowej smugi nie zauważono. Różnica pomiędzy oboma barwikami występuje jeszcze wyraźniej przy porównaniu roztworów bardzo rozcieńczonych. Jeżeli mianowicie rozcieńczymy roztwór barwika Hartleya tak dalece, że smugi w silniej załamanej części widma znikną, wtedy zauważymy, że smuga w czerwonej części widma, uprzednio jednolita, staje się podwójną, przyczem nowo powstająca smuga położona bliżej infraczerwieni jest ciemniejsza i szersza niż smuga silniej załamana. Smuga zaś charakterystyczna chlorofilu nie ulega rozszczepieniu przy żadnem rozcieńczeniu. Opierając się na wyniku tego porównania twierdzimy, że woda barowy użyty nawet w temperaturze zwykłej działa rozkładająco na chlorofil. Powstaje przytem ciało, którego własności optyczne są zbliżone, lecz nieidentyczne z własnościami alkachlorofilu, niemające podobieństwa do chlorofilu właściwego. Chcąc wynik ten poprzeć jeszcze w inny sposób, badaliśmy przemiany barwika Hartleya pod wpływem kwasu solnego,

¹⁾ W sprawie tej smugi Hartley nie wyraża się wprawdzie jednoznacznie; niekiedy nie wspomina o niej wcale w związku z widmem chlorofilu.

porównyując produkt otrzymany z filoksantyną i floceyną, ciałami powstającymi, jak wiadomo, z chlorofilu zwykłego w warunkach analogicznych.

Zgodnie z przewidywaniami barwik Hartleya ciał wspomnianych nie dał, a natomiast filotaoninę. Doświadczenie to można wykonać w kilku minutach. Roztwór barwika Hartleya w wysoku, zawierający jednak nieco gliceryny, zadaje się stężonym kwasem solnym. Barwa roztworu uprzednio błękitno zielona ustępuje natychmiast miejsca szaro zielonej. Płyn rozcieńcza się wodą i mieszaninę traktuje eterem; widmo roztworu eterowego okazało się identyczne z widmem filotaoniny¹⁾. Zachowanie się więc barwika Hartleya jest zasadniczo różne od chlorofilu, a w porównaniu z alkachlorofilem różnica daje się zauważyć o tyle, że ostatnio wspomniane ciało w podobnych warunkach daje stale t. zw. eter filotaoninowy, którego widmo różni się znacznie od widma filotaoniny. Zauważyliśmy jednak niejednokrotnie, że roztwór eterowy, zawierający produkt działania kwasu na barwnik Hartleya daje po dłuższym staniu widmo eterów filotaoniny, fakt, który wskazuje może na to, że filotaonina uległa eteryfikacji pod wpływem chlorku etylu, który mógł być obecny w małych ilościach. Pod innym względem alkachlorofil i barwik Hartleya zachowują się najzupełniej analogicznie, t. j. roztwory ich zadane octem lodowym i odparowane niemal do sucha, dały produkty, które po traktowaniu wodą i ekstrakowaniu eterem dały roztwory, posiadające widmo acetylofilotaoniny. Chlorofil, jak wiadomo, zachowuje się pod wpływem octu lodowego zupełnie inaczej.

Co się tyczy wreszcie widma poza linią F, to i pod tym względem barwik Hartleya różni się od chlorofilu. Jak wykazano dawniej²⁾ chlorofil wywołuje w tej części widma trzy smugi, podczas gdy barwik Hartleya daje tylko jedną, położoną podobnie jak smuga alkachlorofilu na linii K β . Rezultat ten otrzymaliśmy na drodze fotograficznej.

Wynik więc badań naszych nad t. zw. chlorofilem błękitnym Hartleya daje się streścić, jak następuje: Barwik ten nie jest chlorofilem, lecz jego pochodną. Woda barwy działa na chlorofil rozkładająco nawet w temperaturze zwykłej, tworząc ciało zbliżone do alkachlorofilu, lecz z nim, zdaje się, nieidentyczne. Pod wpływem kwasów barwik Hartleya daje filotaoninę lub jej t. zw. etery, a nie filo-

¹⁾ Widmo filotaoniny poddaliśmy ponownym badaniom szczegółowym i wyniki otrzymane ogłosimy niebawem.

²⁾ C. A. Sch. Proc. Roy. Society, tom 65. str. 177.

ksantynę lub filocyjaninę. W zastosowaniu do zagadnień fizyologicznych pogląd Hartleya na widmo chlorofilu może prowadzić do błędów, odnosząc się do pochodnej chlorofilu nigdy nie spotykanej w liściach, a nie do chlorofilu niezmiennego.

II.

Wodan barowy powoduje, jak zaznaczono, w surowym wyciągu chlorofilowym osad, przedstawiający sól barową „chlorofilu błękitnego“ Hartleya. Przesącz alkaliczny od tego osadu daje po dłuższem staniu jeszcze nieco osadu, a filtrat ponowny ma barwę żółtą i zawiera barwki szeregu ksantofilów, których dotychczas rozróżniamy trzy. Przesącz ten nie powoduje żadnych smug w mniej załamanej części widma ciągłego, poza linią zaś F wykryć można obecność czterech smug, z których pierwsza jest widzialna gołym okiem, a o istnieniu trzech pozostałych przekonać się można najlepiej na drodze fotograficznej, używając soczewki kwarcowe, pryzmat islandzki, zaledwie rozszczepiający linię sodową D i lampę żarową Welsbacha o sile 60 świec.

Badanie pierwszego, wyżej wspomnianego przesączu przekona natychmiast o obecności w nim ciała, powodującego smugę w czerwonej części widma, która biorąc dostatecznie szeroką warstwę płynu, okaże się bardzo ciemną i szeroką, lecz w nieco odmiennem położeniu niż pierwsza smuga charakterystyczna chlorofilowa. W porównaniu mianowicie z ostatnią zdaje się być przesuniętą w kierunku fioletowej części widma, o mniej więcej czwartą część jej szerokości. Smug odpowiadających drugiej i trzeciej smudze chlorofilowej nie można spostrzedz, używając nawet bardzo stężonych roztworów, względnie szerokich warstw płynu. Porównyując rozcieńczony roztwór chlorofilowy, którego pierwsza smuga jest tylko wąską, i dobierając odpowiednio warstwę wspomnianego przesączu w ten sposób, aby obie smugi były jednakowej szerokości, zauważyć można przy odpowiednim stężeniu płynów, że brzeg mniej załamany smugi chlorofilowej dotyka się brzegu więcej załamanego smugi przesączu; ostatnia będzie jednocześnie o połowę jaśniejszą niż poprzednia.

Przesącz ów zawiera według Hartleya t. zw. chlorofil żółty, w rzeczywistości jednak mamy tu do czynienia, jak z wyżej powiedzianego wynika, z mieszaniną barwików grupy ksantofilowej, powodujących smug w czerwonej części widma i nowego barwika dotychczas bliżej nie badanego, powodującego smugę w czerwonej części widma podobnie, jak chlorofil właściwy.

Postawiliśmy sobie za zadanie zbadać czy barwik ów istnieje jako taki w surowych wyciągach liści zielonych, czy też powstaje pod wpływem wodanu barowego z chlorofilu właściwego i wreszcie udowodnić, że jest z pewnością odmienny od chlorofilu. Co do pytania ostatniego to właściwie nie może już być wątpliwości, że mamy do czynienia z dwoma różnymi ciałami, na zasadzie stosunków w widmach obu barwików. Nowy bowiem barwik nie powoduje w obszarze pomiędzy liniami B i F więcej niż jedną smugę (w czerwonej części widma). Innym dowodem w tej mierze są fakty następujące: surowy wyciąg chlorofilowy, zadany kwasem solnym daje dwie smugi po obu stronach linii K β w fioletowej części widma. Przesącz zaś traktowany w ten sam sposób daje tylko jedną smugę na tejże linii. Odczyn ten jest nadzwyczajnie czuły, albowiem chcąc mieć wydatne obrazy fotograficzne, stężenie płynów w tych razach winno być nader małe, skutkiem czego ilość stosunkowa obecnych barwików grupy ksantofilowej jest znikoma, niemogąca mieć wpływu na wynik, wiemy bowiem z doświadczenia, że w przypadku barwików tego szeregu płyny muszą być stosunkowo bogate w nie, w przeciwnym razie płyta smug nie wykaże wcale.

Barwa wspomnianego przesączu jest z pewnością mieszana. Dominująca barwa żółta powodowana jest przez ksantofile i po ich usunięciu, otrzymuje się roztwór zielony, bardzo pod tym względem zbliżony do roztworów surowych chlorofilowych. Usunięcie ksantofilów, przynajmniej częściowe, udało się skutecznie w sposób następujący. Roztwór wyskokowy (przesącz) przemywa się, po dodaniu niewielkiej ilości wody, kilkakrotnie czystym siarkiem węgla; ostatni rozpuszcza w sobie ksantofile zostawiając nowy zielony barwik w alkoholu. Roztwór ostatni fluoryzuje czerwono; powoduje jedną smugę w czerwonej części widma zupełnie tak, jak pierwotny przesącz, nie jest jednak zupełnie wolny od ksantofilów, o czym można się przekonać, badając fotograficznie widmo jego poza linią F lub przez dodanie odrobiny proszku węgla kostnego, który pochłania barwik zielony, dając płyn czysto jasno żółty. Wypada zresztą zaznaczyć, że opisane częściowe wyosobnianie owego barwika zielonego nie zawsze się udaje, albowiem obecny on jest tylko w bardzo małych ilościach i ponieważ nie jest bynajmniej zupełnie nierozpuszczalny w siarku węgla.

Checąc udowodnić, że nowy ten barwik (którego zresztą nie można nazwać z Hartleyem „chlorofilem żółtym,” ponieważ wcale takiej barwy nie posiada) nie jest rezultatem li tylko działania wodanu barowego na chlorofil, staraliśmy się wyosobnić go sposobem Sorbyego

nie posługując się żadnymi odczynnikami chemicznymi. Usiłowania nasze nie dały zupełnie zadawalających rezultatów, nie mogliśmy bowiem oddzielić chlorofilu od nowego barwika całkowicie, zdołaliśmy jednak otrzymać roztwory, w których ilość ostatniego w stosunku do chlorofilu jest znacznie większa niż w wyciągach surowych, skutkiem czego byliśmy w możności sądzić o jego własnościach z dokładnością wystarczającą.

Wyciąg surowy liści kłócono kilkakrotnie temi samymi ilościami (na objętość) siarku węgla, skutkiem czego barwiki zielone i większa część żółtych opuszczały alkohol, rozpuszczając się w siarku węgla. W alkoholu pozostaje część barwików żółtych. Różne w ten sposób otrzymane roztwory siarko-węglowe zawierały barwiki w różnych stosunkach ilościowych, stosownie do rozpuszczalności, obecnych mas i t. d.

Pierwsza frakcja zawiera niemal wszystkie chlorofil i znaczną ilość barwików żółtych, pomimo to barwa jej nie jest czysto zielona, a ma silny odcień oliwkowy, przyczynę tego omówimy później. Następne frakcje zawierają mniejsze i stopniowo zmniejszające się ilości chlorofilu, barwiki żółte obecne są w stosunkowo większych ilościach; barwa ich jest żółto-brunatna lub bursztynowo-żółta.

Badanie pierwszej frakcji przekonało, że widmo jej różni się od zwykłego widma chlorofilowego w roztworze wysokowym tylko o tyle, że wszystkie smugi przesunięte są o mniej więcej ćwierć ich szerokości w kierunku infraczerwieni i że przestrzeń pomiędzy pierwszą a drugą smugą wydaje się nieco ciemniejszą. Rozcieńczając ten roztwór tak dalece, że pierwsza smuga chlorofilu okaże się tylko bardzo wąską, zauważymy po więcej załamanej jej stronie zciemnienie niewyraźne widma, którego jednak smugą nazwać nie można.

Druga frakcja daje bardzo odmienny rezultat. Widmo chlorofilu jest jeszcze widoczne, lecz bardzo słabe, a w bliskości pierwszej smugi chlorofilowej zauważyć można nową smugę, jaśniejszą od swego sąsiada. Następne frakcje dają ową nową smugę bardzo wyraźnie; jest ona tym razem ciemniejsza niż smuga chlorofilowa. Czwarta i następne frakcje dają tylko słabe smugi w mniej załamanej części widma z powodu niewystarczającej ilości obecnych w nich odnośnych barwików.

Drugą frakcję siarko-węglową odparowano z wolna, przy czem barwiki nie ulegają rozkładowi. Pozostałość rozpuszczona w alkoholu nie daje owej nowej smugi tak wyraźnie, jak w roztworze siarko-węglowym, natomiast spostrzedz można zarysowany cień po stronie silniej załamanego brzegu pierwszej smugi chlorofilowej. Porównując

ten roztwór z pierwszym przesączem, zawierającym „chlorofil żółty“ Hartleya, przekonamy się, że położenie wspomnianego cienia odpowiada najdokładniej pozycji smugi czerwonej przesącza. Bliższe zastanowienie się przekona natychmiast, że cień w pierwszym przypadku i smuga w drugim powodują się przez to samo ciało, że, innymi słowy, obok chlorofilu właściwego surowe wyciągi liści zielonych zawierają ciało inne, także powodujące absorbcję pewnych promieni czerwonych.

Pozostaje nam jeszcze wyświecić niektóre szczegóły opisanych zjawisk. Zachodzi przede wszystkim pytanie, dlaczego smuga nowego barwika występuje wyraźnie w roztworach siarko-węglowych, zawierających jednocześnie chlorofil, a tylko pod postacią cienia od pierwszej smugi chlorofilowej w roztworze wysokowym.

Przyczyna tej różnicy tkwi w różnym wpływie rozpuszczalnika na smugi obu barwików. Położenie smugi nowego barwika pozostaje niemal to samo w roztworze wysokowym i siarko-węglowym, lecz smuga chlorofilowa przesuwana się w roztworze siarko-węglowym w kierunku infraczerwieni, skutkiem tego w roztworze tym otrzymujemy wrażenie dwu smug. W roztworze wysokowym natomiast smuga chlorofilowa przesuwana się w kierunku fioletowym i brzeg jej, jak to zaznaczono wcześniej, dotyka brzegu smugi nowego barwika, niwecząc poniekąd indywidualność tej smugi. Co się tyczy faktu, że pierwsza frakcja siarko-węglowa nie daje wyraźnie smugi nowego barwika, to można go łatwo tłumaczyć małą jego ilością w tej frakcji. Że tak jest w istocie, można wykazać w sposób następujący. Traktując pierwszą frakcję siarko-węglową alkoholem można wyciągnąć rozpuszczone w niej barwiki, lecz w stosunku ilościowym odmiennym, niż w jakim są obecne w roztworze siarko-węglowym; barwik nowy mianowicie przechodzi do roztworu alkoholowego w stosunkowo większych ilościach. Zadając ów wyciąg alkoholowy wodą strącimy rozpuszczony w nim siarek węgla, który porywa z sobą barwiki, a badanie widma wykaże teraz obecność, obok innych, dwu smug w czerwonej części widma, zupełnie jak w drugiej pierwotnej frakcji siarko-węglowej.

Co się tyczy widma absorbcyjnego w silniej załamanej części widma tych różnych frakcji siarko-węglowych, to spostrzedz mogliśmy tylko albo smugi chlorofilu, albo barwików ksantofilowych, stosownie do tego, który z barwików przeważał. Wszystkie te roztwory dały smugę absorbcyjną przed linią F, której nie dały odpowiednie roztwory wysokowe, i tej to okoliczności przypisujemy szczególną barwę pierwszej frakcji siarko-węglowej. Smuga ta odpowiada, jak o tem

przekonałiśmy się, smudze pierwszej barwików ksantofilowych, gdy bada się je w roztworach siarko-węglowych, rozpuszczalnik ten ma więc własność przesuwania i smug barwików ksantofilowych, w kierunku czerwieni widma. Sorby wprawdzie sądzi, że smuga ta powodowaną jest przez „chlorofil żółty,“ sądząc jednak z opisu jego doświadczeń, przychodzimy do przekonania, że i badacz wspomniany miał do czynienia ze smugą barwików żółtych, niemających nie wspólnego z zielonym towarzyszem chlorofilu. Nie chcemy zresztą twierdzić, aby ostatni nie powodował wcale smug w silniej załamanej części widma, sądzymy tylko, że przypuszczenie takie tymczasem nie jest poparte żadnem doświadczeniem.

Wreszcie pozostaje nam wytłómaczyć fakt, dla czego nowy barwik zielony nie ma żadnego wpływu na widmo surowych wyciągów chlorofilowych. Łatwo można zrozumieć, że i w tym przypadku przyczyną tego jest okoliczność, że ilość chlorofilu przeważa znacznie ilość towarzyszącego mu barwika nowego. W zwykle używanych stężeniach smuga pierwsza jest tak szeroka, że pokrywa przestrzeń zajmowaną przez wąską smugę nowego barwika, w roztworach zaś rozcieńczonych ilość ostatniego jest tak nieznaczna, że nie może mieć wogóle wpływu na widmo.

Nie możemy na razie rozstrzygnąć, czy nowy ów barwik, dla którego tymczasem nie proponujemy żadnej nowej nazwy, jest spokrewniony chemicznie z chlorofilem właściwym.

Zwrócimy jednak uwagę na tę okoliczność, że nie udało nam się otrzymać barowego jego związku, o którym mówi Hartley. Wszystkie obserwowane przez nas osady dały po rozłożeniu kwasem bornym, ciało odpowiadające „chlorofilowi błękitnemu,“ fakt, który wskazuje może na to, że nowy barwik przemienia się pod wpływem wodanu barowego w to samo ciało, które otrzymuje się z chlorofilu zwykłego.

III.

Jak widzimy, zadanie wyosobnienia chlorofilu w stanie czystym staje się tem więcej skomplikowane, im lepiej poznajemy skład surowych wyciągów zielonych liści. Chodzi nietylko o oddzielenie najrozmaitszych ciał bezbarwnych i barwików szeregu ksantofilowego, ale także o usunięcie innego zielonego barwika, którego istnienie dotychczas nie było udowodnione z pewnością. Aczkolwiek i dziś nie mo-

żemy twierdzić, że rozwiązaliśmy ten problemat w zupełności, to jednak sądzimy, iż zrobiliśmy krok naprzód pod tym względem, wynalazłszy metodę, która umożliwia całkowite oddzielenie od chlorofilu barwików grupy ksantofilowej i nowego barwika zielonego, dającą więc produkt zupełnie jednolity, o ile chodzi o barwik, mogący jednak zawierać domieszki ciał bezbarwnych. Metoda wspomniana opiera się głównie na doświadczeniach, mających na celu stwierdzenie obecności nowego towarzysza chlorofilu zapomocą metody Sorby'ego. Świeży wyciąg liści¹⁾ (*Ficus repens*) dający zaledwie ślady czwartej smugi w zielonej części widma, zadaje się jednakową objętością absolutnie czystego siarku węgla i po kilku minutowem klóceniu mieszaniny odpuszcza wyciąg siarko-węglowy. Ostatni zawiera większą część chlorofilu, nieco nowego, zielonego barwika i znaczną ilość barwików grupy ksantofilowej, obok pewnej ilości ciał bezbarwnych.

W celu wydzielenia zanieczyszczających barwików ekstrahuje się go kilkakrotnie temi samemi ilościami (na objętość) 82%-wego alkoholu.

Trzeci, w ten sposób otrzymany wyciąg alkoholowy bada się co do składu w sposób następujący. Przez dodanie wody strąca się rozpuszczony w nim siarek węgla; ostatni porywa z sobą rozpuszczone barwiki.

Część tego roztworu bada się zapomocą spektroskopu; jeżeli ostatni wykaże nieobecność smugi charakteryzującej nowy, zielony barwik, wtedy można być prawie pewnym, że następna, czwarta frakcja alkoholowa zawierać będzie tylko chlorofil (ewentualnie obok ciał bezbarwnych). W celu przekonania się, że tak jest w istocie, czwarty ów wyciąg zadaje się wodą, a wydzielony roztwór siarkowęglowy nie powinien dawać smugi przed linią F (na dowód, że nie zawiera barwików grupy ksantofilowej) i nie powinien też dawać smugi podwójnej w czerwonej części widma. Roztwór ten można odparować bez rozkładu; otrzymana pozostałość przedstawia się pod postacią masy miękkiej, woskowatej, rozpuszczającej się w wyskoku z barwą błękitnawo-zieloną. Wyskokowy roztwór daje normalne widmo chlorofilowe, chociaż zazwyczaj spostrzedz też można ślady smugi czwartej, w zielonej części widma. Poza linią F znajdują się trzy smugi w tem samym położeniu, jak smugi surowych wyciągów liści. Czy pozostałość owa przedstawia chlorofil zupełnie wolny od przymieszek bezbarwnych, o tem niestety dotychczas z pewnością orzec nie możemy, obawiamy

¹⁾ Przygotowany używając 82% alkoholu.

się też, że niepewność pod tym względem istnieć będzie tak długo, jak próby otrzymania go w stanie krystalicznym pozostaną bez skutku. Z tego też powodu odkładamy sąd nasz o poglądzie, że chlorofil zaliczać należy do gromady lecytynów na później.

Manchester w Marcu 1900.

